

Iris japonica × *Iris confusa* 种间杂种的细胞遗传学研究*

周永红, 伍碧华, 颜 济, 杨瑞武, 丁春邦, 张 利

(四川农业大学小麦研究所, 四川 都江堰市 611830)

摘要: 对 *Iris japonica*、*I. confusa* 和它们的人工种间杂种花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对行为、形态学和繁育特征进行了分析, 结果表明: (1) *I. japonica* 和 *I. confusa* 的形态差异较小, 杂种 F_1 形态介于亲本之间; (2) 人工杂交比较容易, 杂种种子能正常发育; 杂种 F_1 体细胞染色体数为 $2n = 30$, 减数分裂中期 I 染色体配对频率很高, 为 13.9 个二价体, 构型为 $0.95 \text{ I} + 5.95 \text{ II}$ (棒形) + 7.95 II (环形) + $0.05 \text{ III} + 0.27 \text{ IV}$, 表明它们有相似的染色体组, 亲缘关系很近; (3) 杂种中有少量的三价体和四价体存在, 可能是亲本染色体间发生了结构重排或是部分同源染色体配对; (4) 杂种中大多数细胞存在 2 个单价体, 有的高达 8 个单价体; 花粉育性为 50.51%, 不能正常结实, 表明 *I. japonica* 和 *I. confusa* 间存在生殖隔离, 是独立的生物学物种; (5) 杂种 F_1 减数分裂前期可观察到细胞融合, 这可能是造成 *I. japonica* 和 *I. confusa* 不同居群出现多倍体和非整倍体的重要原因。

关键词: 蝴蝶花; 扁竹兰鸢尾; 细胞遗传学; 种间杂种; 减数分裂; 染色体配对; 细胞融合
中图分类号: Q 943 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253 - 2700(2003)04 - 0497 - 06

Cytogenetic Study on the Interspecific Hybrid between *Iris japonica* and *Iris confusa* (Irisaceae)

ZHOU Yong-Hong, WU Bi-Hua, YAN Ji, YANG Rui-Wu,
DING Chun-Bang, ZHANG Li

(Triticaceae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: Studies on morphology, fertility and chromosome pairing behavior in meiosis of *Iris japonica*, *I. confusa* and their artificial hybrids were carried out. It is concluded from the results that: (1) Morphologically *I. japonica* was similar to *I. confusa*, and the general appearance of the interspecific hybrid plants was intermediate between their parents. (2) It was easy to obtain the hybrid seeds, and most of the seeds germinated normally and developed into vigorous plants. The chromosome number was 30 in root-tip cells of the hybrid. The F_1 hybrids showed a comparatively high chromosomal pairing in meiosis of pollen mother cells at MI with an average of 13.90 bivalents, and mean meiotic configuration was $0.95 \text{ I} + 5.95 \text{ II}$ (rod) + 7.95 II (ring) + $0.05 \text{ III} + 0.27 \text{ IV}$. This result indicated that *I. japonica* and *I. confusa* shared the highly homologous genomes and were closely related. (3) A few amount of multivalents were

* 基金项目: 美国鸢尾协会 (American Iris Society) 资助项目

收稿日期: 2002 - 11 - 22, 2003 - 04 - 28 接受发表

作者简介: 周永红 (1962 -) 男, 博士, 教授, 从事植物资源学和系统与进化植物学研究。

observed in the hybrid, suggesting either that structural rearrangements have arisen between the parental chromosomes, or which seems more likely, that a certain degree of homoeology exists among the chromosomes in the species. (4) Occurring 2 univalents, irregular meiosis, partial pollen fertility and no seed set in the hybrids suggested that there existed reproductive barriers between *I. japonica* and *I. confusa*, and they are two independent biological species. (5) Cytomixis occurred in meiotic prophase of pollen mother cells (PMCs) in the hybrids F_1 , which was probably the important reason for aneuploid and multi-ploid existed in the different populations of *I. japonica* and *I. confusa*.

Key words: *Iris japonica*; *Iris confusa*; Cytogenetics; Interspecific hybrid; Meiosis; Chromosome pairing; Cytomixis

蝴蝶花 *Iris japonica* Thunb. **和扁竹兰鸢尾** *I. confusa* Sealy **同属鸢尾属** *Iris* L. **鸡冠花附属物组** Sect. *Crossiris* Spach. 两者在形态上非常相似, 很容易混淆, 区别仅在于: 前者茎不明显, 叶基生, 花蓝紫或淡蓝色, 直径 4.5 ~ 5.5 cm; 后者则有明显的茎, 叶呈扇形, 聚生于茎的顶端, 花浅蓝或白色, 直径 5 ~ 5.5 cm (赵毓棠, 1985; Waddick 等, 1992)。许多学者对这两个物种进行过细胞学研究, Simonet (1934) 和 Kazao (1929) 认为 *I. japonica* 是三倍体或超三倍体, $2n = 54$ 以及 28, 34, 36 等非整倍体; Kihara (1982) 认为 *I. japonica* 是不育的三倍体; Yen 等 (1994) 则报道由于 *I. japonica* 和 *I. confusa* 有细胞融合现象, 产生许多非整倍体, 出现 $2n = 28, 32, 34, 36, 42, 46, 52, 56$ 等, 仅 $2n = 30$ 居群的植株是可育的。为了探讨这两个物种的亲缘关系, 我们进行了它们的人工种间杂交, 并成功地得到了杂种。本文对其亲本和杂种 F_1 花粉母细胞减数分裂染色体配对行为进行了分析, 结合它们的育性资料, 以期反映它们之间染色体同源程度, 衡量其亲缘关系。

1 材料与方法

供试材料名称、染色体数目和来源见表 1。

以蝴蝶花为母本, 扁竹兰鸢尾作为父本进行杂交。将母本人工去雄, 套以玻璃纸袋, 当柱头张开后, 授以父本新鲜花粉, 套袋隔离。成熟时收获杂交果实, 剥取种子, 晒干储藏。8 月将杂种种子在培养皿中 25℃ 恒温发芽, 然后移栽盆中。

表 1 供试材料

Table 1 The materials used in this study		
物种	染色体数目	来源
Species	Chrom. No. (2n)	Locality
<i>I. japonica</i>	32	四川都江堰 Dujiangyan, Sichuan
	36	日本京都 Kyoto, Japan
	30	四川天全新沟 Tianquan, Sichuan
	60	四川雅安 Yaan, Sichuan
	30	云南大理 Dali, Yunnan
<i>I. confusa</i>	30	四川荥经酒萍 Yingjing, Sichuan
	28	四川雅安 Yaan, Sichuan

杂种及新本花蕾期, 取减数分裂旺盛的花蕾, 用卡诺氏[(乙醇:冰醋酸 = 3:1) 固定, 24 h 后转入 75% 酒精, 储藏于 4℃ 冰箱中备用。醋酸洋红染色, 涂片观察并统计杂种及亲本花粉母细胞减数分裂中期[染色体配对情况。对杂种和亲本的花粉粒用碘 - 碘化钾饱和溶液染色, 统计育性, 并统计其结实率。

亲本和杂种凭证标本存于四川农业大学小麦研究所标本室 (SAUTI)。

2 结果与分析

以来源不同的 *I. japonica* 为母本, 人工去雄 30 朵花, 授以父本 *I. confusa* 的新鲜花粉, 仅得到 *I. japonica* (四川天全) $\times$ *I. confusa* (四川荥经) (组合 I) 和 *I. japonica* (云南大

理) × *I. confusa* (四川荥经) (组合 II) 2 个杂交组合的杂种, 其杂交结实率分别为 40% 和 55%。组合 I 获得的 12 粒种子, 发芽后得到 1 株幼小植株, 不久死亡。组合 II 获得 26 粒种子, 发芽后得到 4 株发育良好的植株, 正常开花。

采自云南大理的母本 *I. japonica*, 2n = 30, 花粉母细胞减数分裂正常, 染色体配对为 0.28 I + 4.38 II (棒形) + 10.48 II (环形), 85.71% 的细胞为 15 个二价体 (表 2, 图版 I : C)。花粉育性为 95.71%, 能正常结实。但来自四川雅安、天全、都江堰和日本京都的蝴蝶花的体细胞染色体数目有变化, 分别为 2n = 60、30、32 和 36, 除四川天全的 2n = 30 的花粉育性高 (98.32%), 能正常结实外, 其余居群花粉育性较低 (大多小于 60%), 不能结实 (表 3)。

表 2 亲本和杂种 F₁ 花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体配对

Table 2 The chromosome pairing at MI of meiosis of pollen mother cells (PMCs) in <i>I. japonica</i> , <i>I. confusa</i> and their F ₁ hybrid									
亲本和杂种 F ₁ Parents and Hybrids	染色体数目 (2n) Chrom. No. (2n)	观察细胞数目 No. of cells Observed	染色体配对 Chromosome pairing						每细胞交叉数 Chiasmata per cell
			I	II			III	IV	
				Total	Rods	Rings*			
<i>I. japonica</i> (Dali, Yunnan)	30	50	0.28 (0-2)	14.86 (14-15)	4.38 (1-7)	10.48 (8-13)**	--	--	25.35 (23-28)
<i>I. confusa</i> (Yingjing, Sichuan)	30	50	0.18 (0-2)	14.91 (14-15)	4.86 (1-9)	10.05 (6-14)	--	--	24.95 (21-29)
<i>I. japonica</i> (Dali) × <i>I. confusa</i> (Yingjing)	30	65	0.95 (0-8)	13.90 (11-15)	5.95 (2-9)	7.95 (4-13)	0.05 (0-1)	0.27 (0-1)	22.86 (14-26)

* : Rods 棒形二价体, Rings 环形二价体; * * : 变异幅度 Rangeo

表 3 亲本和杂种 F₁ 的花粉育性和结实情况

Table 3 Pollen fertility and seed set in <i>I. japonica</i> , <i>I. confusa</i> and their F ₁ hybrid						
亲本和杂种	来源	染色体数目 (2n)	观察花粉数目	能育花粉		结实情况
Parents and Hybrid	Locality	Chrom. No. (2n)	No. of Pollen	Pollen Fertility		Seed set (+ : Seed
			Grains Observed	No.	%	- : No seed)
<i>I. japonica</i>	Dujiangyan, Sichuan	32	537	238	44.32	-
	Kyoto, Japan	36	607	361	59.47	-
	Tianquan, Sichuan	30	891	876	98.32	+
	Yaan, Sichuan	60	895	578	64.58	-
	Dali, Yunnan	30	885	847	95.71	+
<i>I. confusa</i>	Yingjing, Sichuan	30	1523	1498	98.36	+
	Yaan, Sichuan	28	304	141	46.38	-
<i>I. japonica</i> (Dali) × <i>I. confusa</i> (Yingjing)		30	1180	596	50.51	-

采自四川荥经的父本 *I. confusa*, 2n = 30, 花粉母细胞减数分裂正常, 染色体配对为 0.18 I + 4.86 II (棒形) + 10.05 II (环形), 90.48% 的细胞完全为 15 个二价体 (表 2, 图版 I : B)。花粉育性为 98.49%, 能正常结实。但来自四川雅安的材料, 其染色体数目 2n = 28, 花粉育性低, 为 46.38%, 不能结实 (表 3)。

杂种 F₁ 植株生长茂盛 (图版 I : A), 形态介于父、母本之间, 有明显的茎, 叶有基行生的, 也有呈扇形聚生于茎的顶端, 花淡蓝色, 直径约 5.0 cm。体细胞染色体数目为 2n = 30, 花粉线细胞减数分裂染色体配对为 0.95 I + 5.95 II (棒形) + 7.95 II (环形) +

0.05Ⅲ + 0.27Ⅳ, 平均每细胞交叉数为 22.86, 变幅为 14 ~ 26 (表 2, 图版 I : D, E)。36.37% 的细胞完全为 15 个二价体, 仅在个别细胞中观察到 8 个单价体, 大多数的细胞只有 2 个单价体。花粉育性 50.51% (表 3), 不能正常结实, 只形成瘦瘪的果实, 不形成种子。后期分离不一致 (图版 I : F)。在减数分裂前期, 可观察到细胞融合现象 (图版 I : G)。

从杂种减数分裂染色体配对和花粉育性的研究表明: (1) *I. japonica* 和 *I. confusa* 的亲缘关系很近, 具有相似的染色体组组成; (2) 两者之间存在一定的生殖隔离, 是独立的生物学种。

3 讨论

种间杂种在减数分裂中期 I 的染色体配对情况, 反映了物种间染色体同源性, 能在染色体全长水平上以全部核物质为单位来衡量植物的亲缘关系 (Kimber, 1983)。杂种中染色体配对交叉数越高, 则亲本间染色体同源程度越高, 亲缘关系越近; 反之, 杂种染色体配对数少或不配对, 则反映亲本间的亲缘关系较远或无亲缘关系。在 *I. japonica* × *I. confusa* 的杂种 F_1 减数分裂中, 二价体平均数为 13.90, 6.37% 的细胞为 15 个二价体, 表明这两个物种含有相似的染色体组, 亲缘关系很近。杂种中还有少量的三价体和四价体存在, 则可能是两亲本染色体间发生了结构重排或是部分同源染色体配对。人工杂交比较容易, 杂种种子能正常生长发育形成茂盛的植株, 也表明两亲本有较近的亲缘关系。

杂种中, 大多数的细胞只有 2 个单价体, 仅在个别细胞中观察到 8 个单价体。减数分裂不正常, 后期分离不一致。花粉育性为 50.51%, 不能正常结实, 只形成瘦瘪的果实, 不形成种子。这表明亲本之间存在生殖隔离, 不能产生正常的后代, 不能自由地交换遗传物质, 它们是独立的两个生物学物种。

在杂种 F_1 减数分裂前期, 可观察到细胞融合现象, 但由于发生频率较低, 对整个减数分裂过程影响不大, 杂种减数分裂过程基本正常。舒焕麟等 (1992) 和 Yen 等 (1994) 在 *I. japonica* 和 *I. confusa* 花粉母细胞减数分裂前期 I 的粗线期至双线期中, 观察到核物质在细胞间的转移现象 (细胞融合), 是自然发生的正常生理现象。细胞融合后, 可使花粉母细胞染色体数目增加或减少, 引起染色体基数的非整倍体改变 (郑国锷等, 1975)。因此, 细胞融合的存在, 可能是造成 *I. japonica* 和 *I. confusa* 不同居群出现染色体数目变异, 形成多倍体和非整倍体的重要原因。

〔参 考 文 献〕

- Cheng KC (郑国锷), Nieh HW (聂秀苑), Yang CL (杨庆兰), *et al*, 1975. Light and electron microscopical observations on cytomixis and the study of its relation to variation and evolution [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 15 (1): 53—63
- Kazao N, 1929. Cytological study on *Iris* [J]. *Sci Rep Tohoku Uni Iv Biol*, 4: 543—549
- Kihara H, 1982. Wheat studies, Retrospect and prospect [M]. Tokyo: Kodausha, 129
- Kimber G, 1983. Genome analysis in the genus *Triticum* [A]. In: Sakamoto S, ed. Proceedings of the 6th International Wheat Genetics Symposium, Kyoto, Japan [C]. Kyoto: Kyoto University, 23—28
- Shu HL (舒焕麟), Yen C (颜济), Yang JL (杨俊良), 1992. Cytological study on *Iris confusa* Sealy [J]. *J Sichuan Agric*

Univ (四川农业大学学报), 10 (4): 585—591

Simonet M, 1934. Nouvells recherchs cytologiques et genetiques chez les *Iris* [J]. *Ann Sci Nat Bot Ice Ser*, 16: 229—283

Waddick JW, Zhao YT, 1992. *Iris* of China [M]. Oregon: Timber Press, 14—73

Yen C, Sun GL, Yang JL, 1994. The mechanism of the origination of auto-allopolyploidy and aneuploidy in higher plants based on the cases of *Iris* and Triticeae [A]. In: Wang RRC, Jensen KB, Jaussi C, eds. Proceedings 2nd International Triticeae Symposium, Utah, USA [C]. Utah: Utah State University, 45—50

Zhao YT (赵毓堂), 1985. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* 16 (1) [M]. Beijing: Science Press, 128—198

图版说明

- A. *I. japonica* × *I. confusa* 的杂种 F₁ 植株；B—D. 亲本和杂种 F₁ 花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对
- B. *I. confusa* 示：12 II (棒形) + 3 II (环形)；C. *I. japonica* 示：6 II (棒形) + 8 II (环形)
- D. *I. japonica* × *Iris confusa* 示：8 I + 8 II (棒形) + 3 II (环形)
- E. *I. japonica* × *Iris confusa* 示：2 I + 6 II (棒形) + 6 II (环形) + 1 IV
- F. 杂种后期 I 分离；G. 杂种减数分裂前期细胞融合

Explanation of Plate

- A. Hybrid plants of *I. japonica* × *I. confusa*. Bar: 20 cm；B—D. Chromosome pairing at MI of PMCs in *I. japonica*, *I. confusa* and their hybrid. Bar: 10 μm
- B. *I. confusa* with 12 II (rod) + 3 II (ring). Bar: 10 μm；C. *I. japonica* with 6 II (rod) + 9 II (ring). Bar: 10 μm
- D. *I. japonica* × *I. confusa* with 8 I + 8 II (rod) + 3 II (ring). Bar: 10 μm
- E. *I. japonica* × *I. confusa* showing cytomixis at Prophase I. Bar: 10 μm
- F. *I. japonica* × *I. confusa* at Anaphase I. Bar: 10 μm；G. *I. japonica* × *I. confusa* showing cytomixis at Prophase I. Bar: 10 μm



周永红等：图版 I

ZHOU Yong-Hong *et al*: Plate I